



# UNIVERSIDAD DE LA RIOJA

## TRABAJO FIN DE ESTUDIOS

Título

Virutas de roble y manoproteínas: efecto en la composición y propiedades sensoriales del vino tinto

Autor/es

ELENA SUÁREZ MIGUEL

Director/es

M<sup>a</sup> BELEN AYESTARÁN ITURBE y LETICIA MARTÍNEZ LAPUENTE ,

Facultad

Facultad de Ciencia y Tecnología

Titulación

Grado en Enología

Departamento

AGRICULTURA Y ALIMENTACIÓN

Curso académico

2016-17



***Virutas de roble y manoproteínas: efecto en la composición y propiedades sensoriales del vino tinto***, de ELENA SUÁREZ MIGUEL

(publicada por la Universidad de La Rioja) se difunde bajo una Licencia Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 3.0 Unported.

Permisos que vayan más allá de lo cubierto por esta licencia pueden solicitarse a los titulares del copyright.

© El autor, 2017

© Universidad de La Rioja, 2017

[publicaciones.unirioja.es](http://publicaciones.unirioja.es)

E-mail: [publicaciones@unirioja.es](mailto:publicaciones@unirioja.es)



# UNIVERSIDAD DE LA RIOJA

Facultad de Ciencia y Tecnología

TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Enología

VIRUTAS DE ROBLE Y MANOPROTEÍNAS: efecto en la composición y  
propiedades sensoriales del vino tinto

Alumno:

Elena Suárez Miguel

Tutores:

Belén Ayestarán Iturbe

Leticia Martínez Lapuente

Logroño, julio, 2017

## ÍNDICE

Resumen.....	3
Abstract .....	4
1. INTRODUCCIÓN.....	5
1.1. Técnicas alternativas a la crianza sobre lías .....	10
1.1.1. Preparados comerciales derivados de levaduras. Manoproteínas .....	10
1.1.2. Utilización de fragmentos de roble .....	12
1.2. Análisis sensorial.....	14
2. OBJETIVO .....	16
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	17
3.1. Vinificación y toma de muestras .....	17
3.2. Parámetros enológicos y análisis químicos .....	21
3.2.1. Parámetros enológicos generales .....	21
3.2.2. Análisis químicos .....	21
3.2.3. Análisis sensorial.....	22
3.2.4. Análisis estadístico.....	24
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	25
4.1. Parámetros de color.....	25
4.2. Compuestos fenólicos monoméricos.....	28
4.3. Proantocianidinas y grado medio de polimerización.....	33
4.4. Análisis sensorial.....	34
5. CONCLUSIONES.....	37
6. BIBLIOGRAFÍA .....	38

## Resumen

La crianza sobre lías y el envejecimiento en barrica son técnicas usadas desde hace décadas cuyo objetivo es mejorar la calidad de los vinos desde el punto de vista sensorial. Sin embargo, estas técnicas pueden plantear una serie de desventajas que se pueden solventar empleando técnicas alternativas como la adición de preparados comerciales ricos en manoproteínas y la adición de virutas de roble. Por ello, en este trabajo se evaluó el efecto que tiene la adición de preparados comerciales ricos en manoproteínas y virutas de roble en el color, la composición polifenólica y en la calidad sensorial de vinos tintos.

La adición exclusiva de manoproteínas fue el tratamiento que más afectó negativamente al contenido fenólico, de taninos y color del vino, lo cual se reflejó en el análisis sensorial con una pérdida de tonalidades rojas y de sensaciones astringentes y amargas. El aporte de chips mantuvo el contenido de polifenoles totales y de antocianos monómeros, consiguiendo aumentar el contenido de taninos totales, ácido gálico y catequina. La adición conjunta de manoproteínas y chips produjo un efecto intermedio al obtenido con la adición de manoproteínas y chips de forma independiente. A nivel sensorial, los vinos tratados con chips y manoproteínas y chips mejoraron la fase visual, a nivel aromático se caracterizaron por notas de madera y obtuvieron los valores más altos de astringencia, amargor y volumen en boca.

**Palabras clave:** manoproteínas, virutas de roble, compuestos fenólicos, color, análisis sensorial, vino tinto.

## Abstract

Wine aging on lees and wine aging in barrel are techniques used for decades whose objective is to improve the quality of the wines from the sensorial point of view. However, these techniques may produce a number of disadvantages, which could be avoided by employing alternative techniques such as the addition of commercial preparations rich in mannoproteins and the addition of oak chips. Therefore, the aim of this work was to study the effect of the addition of commercial preparations rich in mannoproteins and oak chips on color, polyphenolic composition and the sensorial quality of red wines.

The exclusive addition of mannoproteins was the treatment that most negatively affected the phenolic content, tannin content and wine color, which was reflected in a loss of red tones and astringent and bitter sensations in the sensorial analysis.

The addition of chips maintained the content of total polyphenols and monomeric anthocyanins, and increased the content of total tannins, gallic acid and catechin. The combined addition of mannoproteins and chips produced an intermediate effect to that obtained with the addition of mannoproteins and chips independently. Wines treated with chips and mannoproteins and chips improved the visual phase at the sensory level. They were characterized by aromatic wood sensations and they obtained the highest values of astringency, bitterness and volume sensations in the mouth.

**Keywords:** mannoproteins, oak chips, phenolic compounds, color, sensory analysis, red wine.

## 1. INTRODUCCIÓN

Hoy en día, uno de los principales objetivos que persigue el sector vitivinícola es continuar mejorando la calidad de los vinos, atendiendo por un lado a la demanda de los consumidores y por otro ampliando la oferta de vinos de calidad. Los consumidores actuales demandan vinos tintos donde resalten y perduren los tonos violetas a lo largo del tiempo, con aromas primarios y secundarios bien integrados con los aromas que nos aporta la madera, con un buen volumen y cuerpo en boca.

Para conseguir dicho objetivo es fundamental trabajar correctamente el viñedo y tener en cuenta que cada variedad de uva aporta al vino unas características organolépticas distintas. Además, existen distintas técnicas enológicas que pueden ser aplicadas a lo largo de la vinificación con el fin de mejorar organolépticamente la calidad de los vinos.

Una de las técnicas utilizadas para la mejora de la calidad final y las propiedades sensoriales de los vinos es la crianza sobre lías. Esta técnica es usada desde hace décadas principalmente en la elaboración de vinos blancos y su objetivo es mejorar la calidad de los vinos desde un punto de vista sensorial. Esta mejora se produce por la liberación de varios compuestos durante la autólisis de las levaduras, entre los que destacan las manoproteínas. Las manoproteínas son considerados los compuestos liberados por las levaduras con mayor interés enológico debido a su influencia tanto en las características tecnológicas como sensoriales del vino. Así, desde un punto de vista sensorial, las manoproteínas pueden reducir la astringencia y amargor, aumentar el cuerpo, la estructura y la redondez en boca y aumentar la persistencia y complejidad aromática tanto en vinos blancos como tintos. Además, pueden favorecer la estabilización tartárica y proteica de los vinos blancos y contribuir a la estabilización del color en los vinos tintos. Sin embargo, la crianza sobre lías puede plantearnos ciertas desventajas, ya que implica dedicar más tiempo y recursos por parte de la bodega, un mayor tiempo de envejecimiento y un mayor riesgo de aparición de olores a reducción y alteraciones microbiológicas debidas al desarrollo de microorganismos no deseados como *Brettanomyces* (Del Barrio Galán, 2011).

Por otro lado, el uso de otras técnicas diferentes a la crianza sobre lías puede conseguir efectos positivos en la calidad organoléptica de los vinos. Este es el caso de la adición al vino de fragmentos de madera de roble sin tostar. Los fragmentos de roble adicionados al vino aportan diferentes compuestos, entre ellos los polisacáridos, que pueden mejorar las características sensoriales de los vinos de forma similar a la crianza sobre lías.

Sin embargo, son muchos los interrogantes y dudas que se plantean los enólogos y técnicos sobre la utilización de estas técnicas y su efecto final en los vinos, ya que son muy pocos los

trabajos experimentales y científicos que se han realizado hasta el momento sobre estas técnicas y la mayoría están centrados en soluciones modelo.

Por otro lado, al realizar un análisis sensorial, se va a examinar en el vino, fundamentalmente, el color, los compuestos aromáticos, la estructura y sabor en boca.

Sensorialmente, el color es el primer atributo que el consumidor percibe y con él se pueden distinguir algunas de sus características como la edad, su estado de conservación o su cuerpo. El color del vino tinto viene determinado por su composición fenólica. Los compuestos fenólicos tienen extraordinaria importancia por varias razones: actúan sobre el color, principalmente en los vinos tintos, son un sustrato fácilmente oxidable, poseen unas características gustativas importantes, influyen en la capacidad de envejecimiento de los vinos tintos y determinan una parte importante de la calidad (Sella et al., 1998).

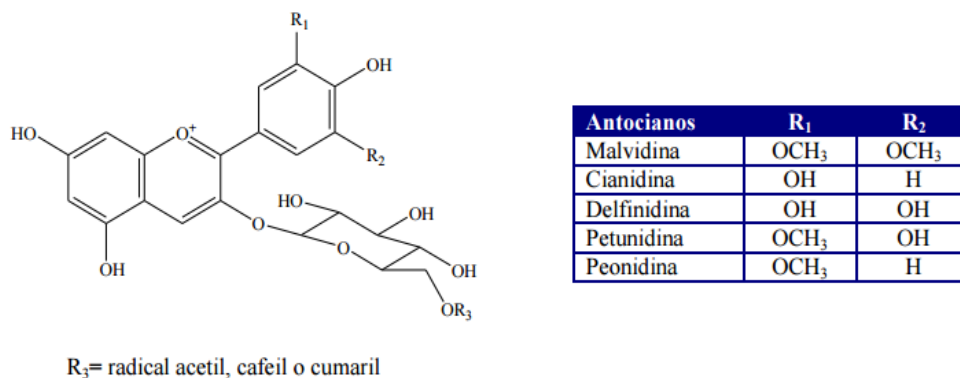
Los compuestos fenólicos se dividen en dos grupos. Por un lado, los flavonoides que incluyen las siguientes grandes familias: flavonoles, antocianos, flavan-3-oles y taninos. Y por otro lado, los no flavonoides, en donde se encuentran los ácidos fenólicos (y sus derivados) y los estilbenos.

Los compuestos no flavonoides se encuentran en la piel, la pulpa, las semillas y el raspón, y no contribuyen de forma directa al color del vino, pero pueden oxidarse por vía enzimática o química dando lugar a tonalidades amarillas/marrones. Este fenómeno denominado pardeamiento es el responsable de que los vinos blancos añejos presenten tonos más oscuros que cuando eran jóvenes. Asimismo, los compuestos fenólicos no flavonoides pueden actuar como copigmentos y modular el color del vino gracias al fenómeno de la copigmentación.

Los flavonoles y flava-3-oles, se encuentran únicamente en la piel y son los responsables del color amarillo de la piel de las uvas blancas y de una parte del color amarillo del vino blanco y del vino tinto. No obstante, su participación directa en el color del vino tinto es de poca importancia, aunque son unos magníficos pigmentos y por lo tanto, pueden ejercer un papel muy positivo.

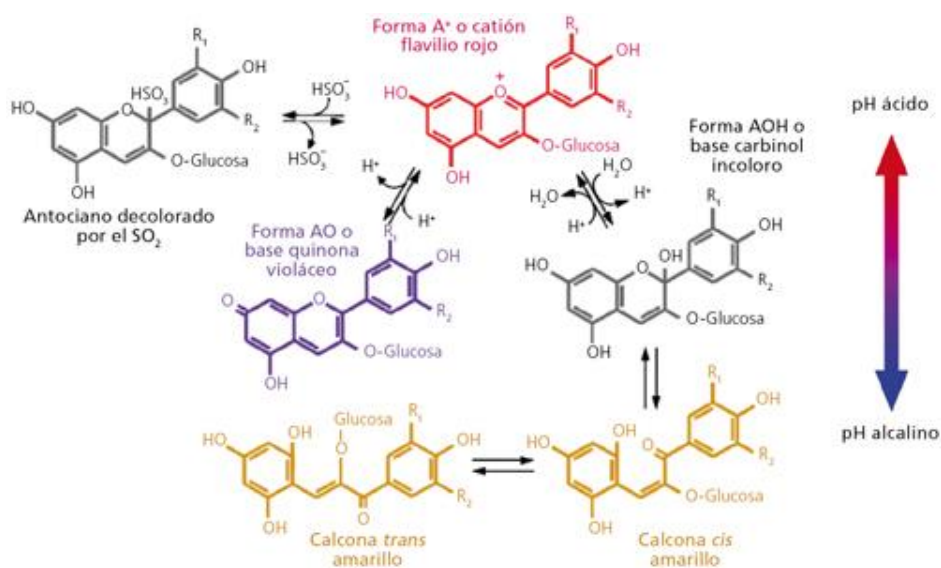
Los antocianos se encuentran en la piel de las uvas y son los responsables directos del color rojo azulado de la piel de las uvas tintas y del vino tinto. En las variedades de *Vitis vinífera* podemos distinguir cinco antocianos diferentes (**Figura 1**): malvidina, cianidina, delphinidina, petunidina y peonidina, siendo la malvidina el antociano mayoritario en los vinos, y además el más estable por lo que se puede considerar que es básicamente el responsable del color del vino (Zamora, 2013).





**Figura 1:** Estructura química de los antocianos de la uva (Martínez Pinilla, 2013)

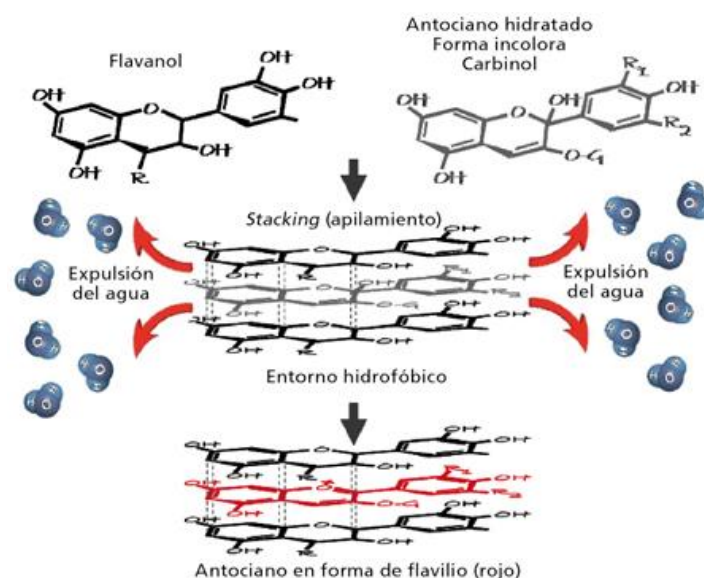
Hasta el momento, se han descrito los antocianos como pigmentos de color rojo, pero en realidad se pueden presentar otras coloraciones en función del pH y de su interrelación con otros polifenoles. Por lo tanto, los antocianos presentan un enorme abanico de colores (Zamora, 2013). De esta manera, estas formas estructurales que coexisten en equilibrio, dependen del pH del medio y de su combinación con otras moléculas. Así, a un pH ácido, la forma mayoritaria que nos encontramos es el catión flavilio, que presenta una coloración roja. Al aumentar el pH, el catión flavilio se transforma en una base quinona de color azul. Estas formas son inestables y van a dar lugar a bases carbinol (bases hidratadas incoloras), que ante un aumento de temperatura dan lugar a la chalcona, una estructura abierta que puede ser ionizada (si es neutra) o amarilla (si esta ionizada), a su vez, esta chalcona puede oxidarse de forma irreversible, lo que supondrá una pérdida de color irreversible ya que da lugar a ácidos fenólicos incoloros (**Figura 2**) (Zamora, 2003).



**Figura 2:** Equilibrio de los antocianos según el pH (Zamora, 2013)

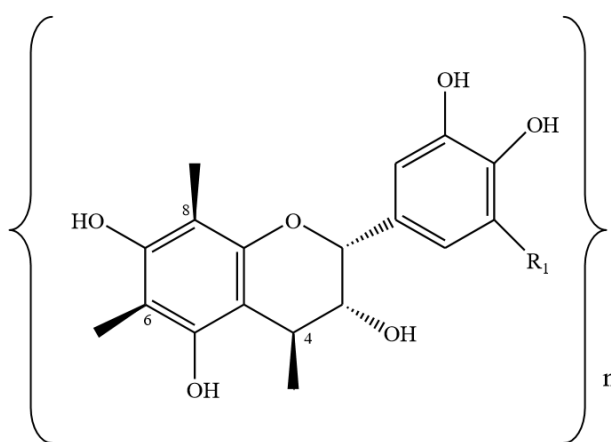
Los vinos tintos presentan un color rojo intenso, lo que quiere decir que existe una estabilización de los pigmentos que permite que el color se mantenga a lo largo de los años (Santos-Buelga & de Freitas, 2009). Los mecanismos principales que intervienen en la estabilización del color son la copigmentación y la formación de compuestos más estables, como los pigmentos poliméricos y los piroantocianos (Cheynier et al., 2006).

El fenómeno de la copigmentación (**Figura 3**) se fundamenta en que las moléculas de antocianos son planas y pueden formar asociaciones entre ellas o con otras moléculas denominadas copigmentos, dando lugar a estructuras de tipo sándwich. Las uniones entre este tipo de moléculas son de tipo débil (Van der Waals e interacciones hidrofóbicas). Dentro de estas agrupaciones se genera un entorno hidrofóbico que impide el acceso de las moléculas de agua, de tal manera que no tiene lugar el ataque nucleófilo. De esta forma se reduce la formación de bases hidratadas incoloras (carbinol) y se desplaza el equilibrio hacia la formación de estructuras coloreadas (flavilio). Por lo tanto, un porcentaje mayor de antocianos del que correspondería de acuerdo con el pH, contribuirá al color, siempre y cuando en el medio existan los copigmentos adecuados. Como copigmentos pueden actuar fenoles, flavonoides, aminoácidos, nucleótidos, polisacáridos, etc. Otro aspecto interesante de la copigmentación es que los copigmentos no sólo incrementan el color del vino, sino que también pueden modificar su tonalidad mediante desplazamientos batocrómicos o hipsocrómicos, por lo que el color de los vinos podría presentar tonalidades diferentes en función de su composición en diferentes copigmentos.



**Figura 3:** Mecanismo de copigmentación. (Zamora, 2013)

Por último, los flavan-3-oles, representan una compleja familia compuesta por las diferentes formas isoméricas de la catequina y sus polímeros denominados taninos condensados o proantocianidinas (**Figura 4**). Se encuentran en la piel, en las semillas y en el raspón, y son responsables del gusto amargo, de la astringencia y de la sensación de cuerpo en el vino. La mayoría de estudios sobre las proantocianidinas dan más importancia a la composición de su perfil y a su grado medio de polimerización que a su contenido total. Así, los taninos de semilla poseen sólo procianidinas, mientras que los del hollejo están formados por procianidinas y prodelfidinas. Estas moléculas pueden presentar un número elevado y variable de unidades, siendo el grado medio de polimerización de los hollejos muy superior al de las semillas.



**Figura 4:** Estructura de las proantocianidinas

Los flavan-3-oles no participan directamente en el color del vino, pero si pueden contribuir como copigmentos o mediante complejas transformaciones químicas en las que interaccionan entre ellos y/o con los antocianos que originan nuevos pigmentos. Por otra parte, son también, en gran medida, los responsables del sabor amargo, de la astringencia, del cuerpo y de la capacidad para envejecer el vino.

Las soluciones ácidas de las procianidinas no son estables, y con el tiempo su color envejece hacia tonalidades marrones, e incluso pueden llegar a precipitar, debido a la formación de polímeros de elevada masa molecular. En el vino se pueden producir dos posibles reacciones:

- En ausencia de oxígeno y con temperaturas elevadas, las procianidinas se hidrolizan formando un carbocatión, que reacciona con la carga negativa de otra procianidina, formando un polímero de mayor peso molecular. Se dice que la polimerización es homogénea u ordenada, también llamada “polimerización lineal”, donde los compuestos formados son de color amarillo, pudiendo precipitar en función de su

complejidad, y continúan presentando las mismas propiedades de astringencia que un tanino menos polimerizado.

- En presencia de oxígeno y con temperaturas más reducidas, la oxidación del alcohol forma etanal, y esta sustancia es capaz de unir moléculas de procianidinas, formando un polímero de elevado peso molecular, mediante una polimerización heterogénea o desordenada también llamada “polimerización cruzada”, donde los compuestos formados son también amarillos, de igual manera pueden llegar a precipitar, pero son menos reactivos y su astringencia se ve muy atenuada, participando también en las sensaciones de volumen en la boca.

Los taninos condensados procedentes de la uva, y los taninos hidrolizables extraídos de la madera durante la crianza en barrica, son las principales sustancias responsables de la astringencia de los vinos, siendo los flavonoles monómeros y el ácido gálico de la madera, los taninos más amargos y astringentes, mientras que los oligómeros y polímeros correspondientes formados durante el envejecimiento se suavizan al perder el carácter amargo (Hidalgo Togores, 2011).

## **1.1. Técnicas alternativas a la crianza sobre lías**

### **1.1.1. Preparados comerciales derivados de levaduras. Manoproteínas**

Las manoproteínas son proteínas glicosiladas con restos de manosa que nos encontramos como compuesto mayoritario en las paredes celulares de las levaduras. En el vino podemos distinguir dos tipos de manoproteínas: las excretadas por las levaduras durante la fermentación alcohólica, especialmente durante la fase de crecimiento exponencial y las liberadas por la autólisis celular de las levaduras durante la crianza del vino sobre lías, que son las que poseen efectos protectores frente a los enturbiamientos proteicos y a las precipitaciones tartáricas (Hidalgo Togores, 2011).

El proceso autolítico de las levaduras ha sido objeto de numerosos estudios, resultando de ellos numerosas aplicaciones prácticas durante el proceso de maduración o afinado de los vinos, etapa que condiciona la calidad organoléptica del producto final, así como su estabilidad en el tiempo.

Los primeros estudios realizados con preparados comerciales derivados de levaduras y ricos en manoproteínas se han encaminado a evaluar el papel que juega la fracción proteica de las manoproteínas en relación a la evolución global de los vinos, obteniendo como resultados una serie de ventajas técnicas en comparación a un procedimiento tradicional de afinado.

El enriquecimiento de los vinos con este tipo de preparados participa de forma activa sobre la estabilidad y la mejora organoléptica del producto final y tiene la posibilidad de reducir los tiempos de maduración o afinado de los vinos y optimizar los resultados de calidad (Vivas et al., 2003).

Por otro lado, Escot et al. (2001) realizaron un estudio para analizar como afectaba la adición de manoproteínas comerciales y de levaduras súper-productoras de manoproteínas en el color de los vinos tintos de Pinot Noir. Se estudiaron varios parámetros de color: intensidad colorante, tonalidad, compuestos de color, limpidez y saturación, pero en ninguno de ellos encontraron diferencias significativas respecto al control. Sin embargo, en alguno de los vinos adicionados se observó un aumento de índice de PVPP, lo que indicó que el color fue más estable debido a un aumento de antocianos poliméricos. Ésta estabilización se produjo por medio de interacciones manoproteína-antociano polimérico. De este modo, la formación de los complejos manoproteína-antociano polimérico disminuyó la reactividad de los pigmentos poliméricos, impidiendo que aumentara su polimerización y precipitaran, evitando así la pérdida de materia colorante inestable.

Posteriormente, en un estudio realizado por Guadalupe (2008), se realizaron distintos ensayos para conocer el efecto de las manoproteínas en el color de los vinos tintos. Estos tratamientos consistieron en una adición de preparados comerciales a base de manoproteínas en la etapa prefermentativa, uso de cepas de levaduras super-productoras de manoproteínas y envejecimientos del vino sobre sus lías lisadas. Los resultados obtenidos en estos estudios cuestionaron el efecto protector de las manoproteínas sobre los taninos y el color estable de los vinos tintos. De hecho, el empleo de manoproteínas industriales produjo una desestabilización y precipitación de las proantocianidinas y de los pigmentos responsables de color estable de los vinos tintos, aunque no afectó al contenido de fenoles monómeros ni al color del vino debido a los antocianos monómeros. A excepción del efecto sobre el color estable, las manoproteínas liberadas por cepas súper-productoras mostraron los mismos efectos en los parámetros analizados que los purificados industriales.

Del mismo modo, Martínez Pinilla (2013) evaluó el efecto de la adición de manoproteínas a los vinos varietales de Tempranillo, Monastel y Maturana Tinta de Navarrete después de la fermentación maloláctica. El empleo de manoproteínas no favoreció la estabilidad del color ni de las proantocianidinas y produjo un descenso del color rojo total del vino, del color estable y del contenido de ácidos hidroxicinámicos.

Por otro lado, también hay estudios que han comprobado que las manoproteínas son capaces de retener compuestos del aroma. Se ha comprobado la capacidad de las paredes de levadura de interaccionar con terpenos glicosilados, lo que puede tener consecuencias importantes en

el aroma varietal de los vinos. Por otro lado, debido a la capacidad de las paredes de levadura de adsorber compuestos volátiles responsables de defectos aromáticos en el vino (fenoles volátiles), se ha propuesto también la utilización de las paredes de levadura como método para eliminar o reducir la presencia de estos compuestos indeseables en el vino. Además del efecto de estas preparaciones en la reducción en volatilidad de los compuestos del aroma, se ha comprobado la capacidad de algunos compuestos volátiles presentes en estas preparaciones y originados durante su procesamiento (pirazinas) de ser liberados a los vinos, lo que podría implicar importantes cambios en el aroma del vino (Pozo Bayón et al., 2009).

Por último, hay autores que describen que las manoproteínas reducen la astringencia y aumentan el cuerpo y la redondez del vino en boca. Estos cambios se atribuyen a la formación del complejo manoproteína-tanino, que disminuye la reactividad del tanino impidiendo que se polimerice y precipite con las proteínas salivares. Parece ser que en este efecto, las levaduras que se liberan durante la fermentación alcohólica son más efectivas que las procedentes de la autólisis (Vidal et al, 2004).

El uso de las manoproteínas como aditivo enológico durante la vinificación para mejorar la estabilidad tartárica y proteica fue autorizado por la Unión Europea en 2005 (Reglamento CE nº 2165/2005 de 20 de diciembre). Además, también está autorizado el uso de preparados comerciales de paredes de levadura hasta un límite de 40 g/HL (Reglamento CE nº 606/2009 de 10 de julio de 2009).

### **1.1.2. Utilización de fragmentos de roble**

Por otra parte, la madera de roble es el material utilizado por excelencia a la hora de hacer evolucionar un vino. Esta madera es la preferida por su adecuada porosidad, que permite un adecuado intercambio gaseoso del vino con el exterior, es impermeable a los líquidos, fácil de trabajar gracias a su maleabilidad, presenta elevada resistencia y produce una notable cesión de aromas y taninos a los vinos (Masson et al., 1996). Sin embargo, la crianza de los vinos en bodega requiere unos largos periodos de tiempo para que se produzca un correcto envejecimiento, lo que supone una importante inversión económica en la bodega.

En este sentido, la adición de fragmentos de roble al vino supone una alternativa a la bodega tradicional. Los fragmentos de roble se pueden clasificar de diferente forma en función del origen de la madera (sobre todo americano y francés), la intensidad de tostado (baja, media o alta), y el tamaño (polvo, virutas, chips, segmentos de madera, duelas). Hay que tener en cuenta que los factores que son importantes para la calidad de una bodega también lo han de ser para sus alternativas, de forma que el curado natural, largo y controlado de la madera es un factor determinante de su calidad (Béteau & Roig Losa, 2006).

Generalmente un aporte de madera aumenta el color de los vinos tintos. Se debe tener en cuenta que este efecto es superior cuanto más temprano se aporta la madera. Esto se consigue porque los taninos reaccionan con los antocianos en el proceso de copigmentación durante la maceración, antes de la producción de alcohol por las levaduras. Este efecto es aún más evidente si se emplea madera sin tostar, ya que es más rica en taninos. Sin embargo, a pesar de que con el aporte de fragmentos de roble hay un aumento de color en el vino, no se asegura de que este sea estable. Para estabilizarlo es necesario un aporte de oxígeno, ya sea por microoxigenación u otras alternativas (Béteau & Roig Losa, 2006). Por otro lado, hay autores que afirman que el aporte de fragmentos de roble al vino evita la degradación de antocianos libres y que los elagitaninos que aporta la madera, pueden actuar evitando la oxidación de antocianos y de otros compuestos fenólicos, con lo que se consigue una estabilización del color (Del Barrio Galán, 2011).

Cuando se trabaja con fragmentos de roble es necesario tener presente el antagonismo entre complejidad e intensidad. Efectivamente, cuanto más intensa sea una madera, menos compleja es, y a la inversa. Un trabajo aromático preciso se podrá realizar con dosis bajas de chips, a la vez que un trabajo sobre la complejidad exigirá una dosificación superior de mezclas de diferentes tostados (Béteau & Roig Losa, 2006).

Del mismo modo, es importante señalar que los grupos aromáticos más importantes que aporta la madera de roble son: furanos, aldehídos volátiles, fenil cetonas y whisky lactonas (Zamora, 2003).

Por último, la madera aumenta el volumen global en boca por un incremento conjugado de la estructura y el dulzor. Con los fragmentos de roble se puede incidir en este equilibrio de varias maneras:

- El uso de la madera sin taninos y madera sin tostar permite aportar dulzor.
- La actividad microbiológica durante la fermentación alcohólica y maloláctica, permite limitar el impacto de la madera sobre la estructura.
- Por el contrario, el uso de madera con taninos después de la fermentación permite aumentar la estructura de los vinos.

El dulzor lo aportan las lactonas y los polisacáridos en el caso de madera sin tostar, y los compuestos de degradación de las ligninas en las maderas tostadas. El efecto de la estructura en el vino lo aportan los taninos, pero también algunos compuestos volátiles que aparecen en los tostados intensos como el 4-metil-2,6-dimetoxifenol que es responsable de las sensaciones de dureza y sequedad. En estos casos, la fermentación puede suavizar este efecto por la volatilización de compuestos agresivos que proviene de la madera de mala calidad o con un tostado defectuoso (Béteau & Roig Losa, 2006).

La Unión Europea autorizó el uso de fragmentos de madera de roble en la elaboración de los vinos (CE Reglamento 2165/2005 de 20 de diciembre de 2005) y reguló la denominación y presentación de los vinos tratados con fragmentos de madera de roble (CE Reglamento 1507/2006) de 11 de octubre de 2006). Así, la Unión Europea permite su utilización con mayor o menor grado de tostado, siempre que el 95% de los fragmentos supere los 2 mm de tamaño y no liberen sustancias en concentraciones que puedan presentar un riesgo para la salud.

A pesar de los estudios desarrollados hasta el momento, resultaría interesante realizar más ensayos para evaluar el efecto de la adición de manoproteínas y fragmentos de roble en la composición fenólica, color y propiedades organolépticas de los vinos tintos.

## **1.2. Análisis sensorial**

Finalmente, es importante realizar un análisis sensorial para clasificar un vino. De hecho, las interacciones entre sustancias olorosas y entre éstas con diferentes compuestos no volátiles pueden afectar a la intensidad del bouquet que percibimos.

Cuando un vino es catado en boca se puede observar una evolución ordenada de los diferentes impactos gustativos. Se denomina ataque a la primera impresión que inunda la boca, que normalmente son los sabores dulces, melosos y suaves. Esta sensación puede durar de 2 a 3 segundos. Después hay un cambio progresivo, modificación que podemos denominar evolución, donde hay una disminución progresiva de los sabores dulces y un aumento gradual de los sabores ácidos. Esta fase suele durar de 5 a 12 segundos. Finalmente, la impresión final, conocida también como de boca, en la cual existe un dominio de los sabores ácidos y sobre todo de los amargos. No hay que olvidar que el vino se despide en boca con las sensaciones olfativas a través de la fase retronasal, donde las sensaciones en boca se alargan y es el último recuerdo que queda del vino (Palacios et al., 2006).

El amargor y la astringencia son parámetros bucales asociados a compuestos fenólicos de naturaleza diversa. La astringencia de las sustancias tánicas se atribuye a su capacidad para desnaturalizar proteínas. Por otra parte, el amargor se relaciona con la capacidad de interaccionar con los fosfolípidos de las membranas celulares de las papilas gustativas.

Como se ha comentado en el Apartado 1, la astringencia de los vinos está relacionada con la presencia de sustancias fenólicas, entre las que destacan los flavonoides y especialmente los derivados de flavan-3-oles. Se debe tener en cuenta que la contribución de los fenoles a la sensación de amargor, y su capacidad astringente aumenta considerablemente la persistencia



de la sensación bucal, y contribuye al cuerpo del vino confiriéndole estructura o presencia. El equilibrio y redondez de los vinos queda asociado también a los fenoles precisamente por esta contribución a la astringencia, que deberá alcanzar su justo equilibrio con la acidez, el grado alcohólico, la suavidad de la glicerina, etc. No debe olvidarse que no todos los taninos producen sensaciones astringentes iguales, por ello, para conseguir la mayor calidad posible se buscan taninos dulces astringentes, pero no ásperos y carentes de notas verdes desagradables (Suárez-Lepe et al., 2002).

## **2. OBJETIVO**

El objetivo de este Trabajo Fin de Grado ha sido estudiar el efecto de la adición de productos comerciales ricos en manoproteínas y de virutas de roble en el color, la composición polifenólica y en la calidad sensorial de vinos tintos.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Vinificación y toma de muestras

Este estudio se llevó a cabo con un vino tinto de la variedad Tempranillo de la vendimia 2016, siguiendo el proceso tradicional de vinificación en tinto. La elaboración se realizó en la bodega experimental de la Universidad de La Rioja.

Las uvas se vendimiaron de forma manual el día 20 de septiembre de 2016 en el CIDA (Servicio de Investigación y Desarrollo Tecnológico Agroalimentario), en estado óptimo de maduración y con buenas características sanitarias. La **Tabla 1** muestra los parámetros enológicos de la uva en el momento de la vendimia.

**Tabla 1:** Parámetros enológicos de la uva en el momento de la vendimia.

Variedad	Origen	Grado alcohólico probable (%v/v)	AcT <sup>1</sup> (g/L)	pH
Tempranillo	CIDA	13,5	5,1	3,59

<sup>1</sup>AcT: acidez total expresada en ácido tartárico

Tras el despalillado estrujado, la uva se encubó en depósitos de 500 L de capacidad y se adicionaron 3 g/HL de SO<sub>2</sub>. Posteriormente se llevó a cabo la fermentación alcohólica mediante la adición de 25 g/HL de levadura comercial *Saccharomyces cerevisiae* LSA Viniferm (Agrovin). El proceso de fermentación maceración duró aproximadamente 7 días a una temperatura de 25 ± 5 °C. Tras la fermentación alcohólica, los vinos se descubaron a depósitos de acero inoxidable mezclándose los vinos de prensa procedentes del prensado de sus hollejos fermentados. La fermentación maloláctica, que duró 30 días aproximadamente se llevó a cabo mediante la adición de 1 g/HL de bacterias lácticas VP41 *Oenococcus oeni* (Lallemand) a una temperatura de 18 ± 3 °C. Finalizada la fermentación maloláctica los vinos se trasegaron a depósitos siempre llenos de 25 L y se corrigieron hasta un contenido de SO<sub>2</sub>L de 30 mg/L.

Por triplicado se aplicaron los distintos tratamientos que se describen a continuación (**Figura 4**):

- Testigo (T0): Vino testigo sin tratamiento.
- Tratamiento con chips (C): Al vino testigo se le adicionó 1 g/L de chips de roble Spirit Classic (Agrovin).
- Tratamiento con manoproteínas (MP): Al vino testigo se le adicionó 30 g/HL de manoproteínas Super Bouquet MN (Agrovin).

- Tratamientos con chips y manoproteínas (CMP): Al vino testigo se le adicionaron 1 g/L de chips de roble Spirit Classic (Agrovin) y 30 g/HL de manoproteínas Super Bouquet MN (Agrovin).

Los parámetros enológicos clásicos del vino testigo al inicio del tratamiento (T0) se presentan en la **Tabla 2**. La duración de los distintos tratamientos fue de 1 mes con 2 battonages semanales en el caso de los vinos con manoproteínas comerciales y se llevó a cabo a la temperatura ambiental de la bodega.

Las tomas de muestras se realizaron en el vino testigo al inicio del tratamiento (T0) y tras un mes de tratamiento (T1, C1, MP1, CMP1).

**Tabla 2.** Parámetros enológicos generales en el vino testigo T0.

Muestra	pH	Grado Alcohólico (%v/v)	AcT <sup>1</sup> (g/L)	AcV <sup>1</sup> (g/L)	AcM <sup>1</sup> (g/L)	SO <sub>2</sub> Libre (mg/L)	SO <sub>2</sub> Total (mg/L)	AR <sup>1</sup> (g/L)
T0 <sup>2</sup>	3,74	13,5	4,8	0,44	0,1	16	65,2	1,8

<sup>1</sup>AcT: acidez total expresada en ácido tartárico; AcV: acidez volátil expresada en ácido acético; AcM: ácido málico; AR: azúcares reductores.

<sup>2</sup>T0: vino testigo al inicio de tratamiento

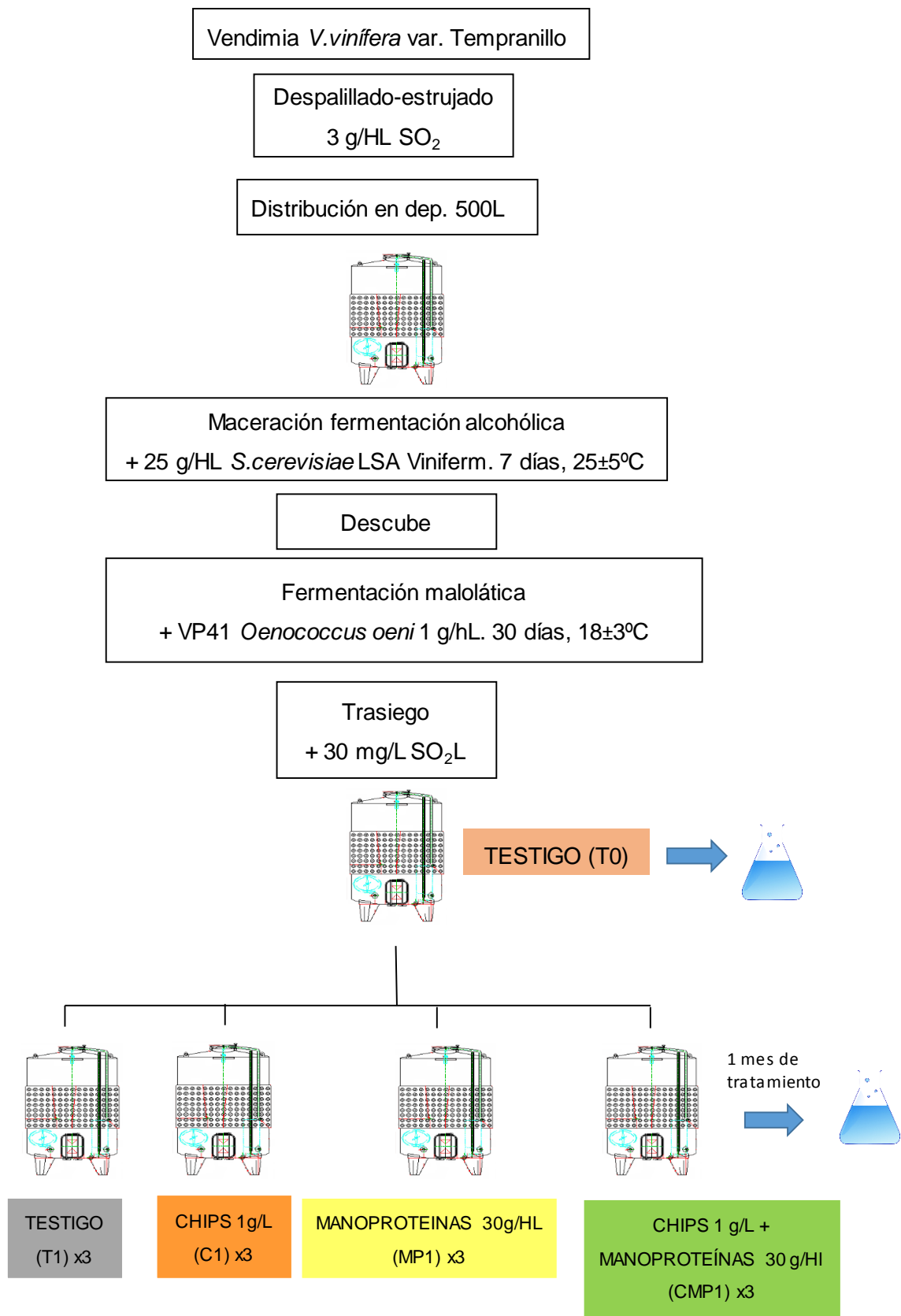
Los productos comerciales utilizados, su fabricante, las características de estos productos y sus efectos en los vinos según la información reflejada en sus fichas técnicas, aparecen recogidas en las **Tablas 3 y 4**.

**Tabla 3:** Composición y características de las manoproteínas empleadas.

<b>Producto</b>	Super Bouquet MN
<b>Fabricante</b>	Agrovin
<b>Composición y características</b>	Corteza de levadura autolisada, rica en polisacáridos de levaduras que supone entre el 48-53% en peso de producto. Alto contenido en manoproteínas solubles (20-22%), no ligadas a polisacáridos.  Contribuye a las características sensoriales del vino, puliendo los taninos agresivos, disminuyendo la astringencia e incrementando las sensaciones de cuerpo y volumen en boca.
<b>Efectos esperados</b>	Incrementa la persistencia y estabilidad de los aromas.  Mejora la estabilidad de color, por formación de coloides protectores y complejos estables con los taninos.  Mejora la estabilidad tartárica y proteica.

**Tabla 4:** Composición y características de los chips empleados.

<b>Producto</b>	Spirit CLASSIC ( <i>Quercus petraea</i> y <i>Quercus robur</i> )
<b>Fabricante</b>	Agrovin
<b>Composición y características</b>	Grano fino, alta porosidad y permeabilidad. Tostado medio.  Altas concentraciones de eugenol (aromas a especias) y maltol (aromas a torrefacto, caramelo...)
<b>Efectos esperados</b>	Incremento en la complejidad aromática de los vinos por la cesión de aromas a vainilla y especiados.  Respeto del carácter afrutado del vino debido a una lenta y progresiva cesión de los aromas característicos de la madera.  Aporte de estructura en boca por su contenido en elagitanino.



**Figura 4:** Esquema de la vinificación, tratamientos realizados y toma de muestras

### **3.2. Parámetros enológicos y análisis químicos**

Los parámetros y compuestos evaluados en este Trabajo de Fin de Grado, así como los métodos de análisis utilizados para su determinación se describen a continuación.

#### **3.2.1. Parámetros enológicos generales**

En todas las muestras de vino se realizaron análisis de grado alcohólico, pH, acidez total, acidez volátil, sulfuroso libre y sulfuroso total, siguiendo los métodos oficiales de la OIV (1990). Después de terminada la fermentación alcohólica se determinó el contenido de azúcares reductores por métodos enzimáticos usando el autoanalizador LISA 200. Los controles del contenido de ácido málico hasta la finalización de la fermentación maloláctica también se realizaron por métodos enzimáticos con el mismo autoanalizador.

#### **3.2.2. Análisis químicos**

##### *1.- Parámetros de color*

Las medidas de intensidad colorante, tonalidad e índice de polifenoles totales se midieron mediante las técnicas recomendadas por la OIV (1990). Los parámetros CIELAB se calcularon según el método propuesto por (Ayala et al., 1997). El color total del vino y el color estable frente a la adición del bisulfito se determinaron por el método propuesto por Levengood & Boulton (2004). Estos métodos usan medidas espectrofotométricas que se llevaron a cabo utilizando el espectrofotómetro CARY 300 Scan UV-VIS (Varian, Madrid, España). Todas las medidas se refirieron a cubetas de 10 mm de espesor.

##### *2.- Compuestos fenólicos monómeros*

La identificación y cuantificación de antocianos, ácidos hidroxicinámicos, ácidos hidroxibenzoicos, flavonoles y flavan-3-oles se realizó por cromatografía líquida de alta resolución con detector de fila de diodos (HPLC-DAD). Las muestras de vino se filtraron por filtros de disco de PTFE de 0,45 micras de tamaño de poro y se inyectaron directamente un cromatógrafo líquido modular 1100 Agilent (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemania) controlado por el software Agilent Chemstation, equipado con una bomba cuaternaria G1311A, un desgasificador G1379A, un horno de columna G1316A, un inyector automático G1313A y un detector G1315B. La separación se llevó a cabo en una columna ACE (5 C18-HL) de tamaño de partícula de 5  $\mu\text{m}$  (250 mm x 4,6 mm) según la metodología propuesta por Gómez-Alonso et al. (2007).

### 3.- Proantocianidinas

Las muestras de vino se fraccionaron previamente por cromatografía de permeación en gel a baja presión (GPC) en una columna Toyopearl HP-50F como describe Guadalupe et al. (2006), empleando el equipo de cromatografía semi-preparativa Gilson GX-271. Este equipo estaba compuesto por un sistema de bombeo (331/332 Gilson), un inyector automático (402 Gilson), un detector DAD (modelo 172) y un colector de fracciones (GX-271). El software empleado para manejar el equipo fue TRILUTION LC (versión 3.0 Service Pack 4. 4.0.11.1). Una primera fracción (F1) se eluyó con una mezcla de etanol/agua/ácido trifluoroacético (55/45/0,05, v/v/v) y la segunda fracción (F2) se obtuvo con una mezcla acetona/agua (60/40, v/v). La fracción rica en taninos (F2) se hidrolizó en presencia de floroglucinol y se analizaron las rupturas (o aductos de floroglucinol) por HPLC-DAD usando una columna ACE (5 C18-HL) de tamaño de partícula de 5µm (250 mm x 4,6 mm) y el resto de condiciones descritas en el método Kennedy & Jones (2001). El equipo de cromatografía utilizado fue el mismo que el usado para el análisis de los compuestos fenólicos monómeros. Este método permitió cuantificar las proantocianidinas totales y su grado medio de polimerización.

#### 3.2.3. Análisis sensorial

Se analizaron sensorialmente las muestras de vino tras un mes de tratamiento (T1, C1, MP1 y CMP1).

El panel de cata estuvo compuesto por 16 catadores, todos ellos alumnos del 3<sup>er</sup> curso del Grado de Enología de la Universidad de La Rioja. Los catadores habían participado previamente en paneles descriptivos de atributos sensoriales, puntuando también la calidad de vinos tintos. Todos los vinos se evaluaron en tres fases, en la fase visual (color), en la fase aromática (fracción volátil) y en la fase gustativa (equilibrio en boca).

El análisis sensorial se realizó en dos sesiones. En una primera sesión los catadores describieron los atributos del vino con sus propias palabras. Los términos descriptivos y sus definiciones se debatieron entre los catadores y posteriormente se compiló un vocabulario de consenso común. Todos los términos generados eran términos habituales para definir vinos tintos. En la segunda sesión se realizó la fase de evaluación sensorial propiamente dicha. Los catadores utilizaron el vocabulario consenso, marcando la intensidad de cada atributo en una escala de respuesta cuantitativa con 5 niveles de intensidad, donde 0 correspondía a la ausencia de percepción de la propiedad considerada, y 5 a una intensidad muy elevada del mismo.

La ficha de cata que recoge todos los atributos de las catas realizadas de los vinos se presenta en la **Figura 5**.



Los vinos se presentaron a 18 °C en catavinos codificados de acuerdo a la norma ISO 3591 (1977). La evaluación sensorial se llevó a cabo en la sala de catas de la Universidad de La Rioja, que cumple con la norma ISO 8589 (1998).

FECHA							
NOMBRE							
		<b>VALORACIÓN</b>					
<b>DESCRIPTOR</b>	<b>DEFINICIÓN</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>VISUAL</b>							
Intensidad de color							
Azul-Violetas							
Rojo-Granates							
Teja							
Limpidez							
Brillo							
<b>FASE OLFATIVA</b>							
Intensidad aromática	Grado de intensidad aromática a copa parada						
Frutas rojas	Fresa, mora, frambuesa						
Fruta madura o frutos secos	Plátano maduro, manzana madura, kikos, nueces, almendras						
Madera	Roble, café, vainilla, tostados						
Empíreumáticos	Balsámicos, especiados, ahumados						
Lácticos	Lácteos, mantequilla, yogurt						
Herbáceos	Hierba, musgo, verduras						
Azufrado	Goma, caucho, reducción						
Sucio	Moho						
Oxidado							
<b>BOCA</b>							
Ácido							
Amargo							
Dulce							
Volumen en boca	Graso, glicérico, redondo						
Astringente							
Tanidad	0: taninos verdes, 5: taninos redondos						

**Figura 5:** Ficha de cata con los atributos de la sesión de cata.

#### **3.2.4. Análisis estadístico**

Se asumió distribución normal y varianzas homogéneas en el conjunto de datos obtenido, aplicándose un análisis de la varianza (ANOVA). Las diferencias significativas encontradas se expresaron con un nivel de confianza superior al 95%.

El análisis se realizó con el paquete informático SPSS 16.0 (SPSS Inc., Chicago, USA).

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Parámetros de color

En la **Tabla 4** se muestran los parámetros de color e índice de polifenoles totales en las muestras analizadas.

Excepto el vino testigo T1, tras un mes de tratamiento, todos los vinos mostraron un descenso significativo de la intensidad de color (IC) con respecto al vino testigo T0. El descenso más acusado se observó en los vinos tratados con manoproteínas (MP1). La caída de intensidad de color se debió fundamentalmente al descenso en las tonalidades rojas (A520).

Por otro lado, se observó un aumento significativo de la tonalidad en todos los vinos tratados, debido principalmente a la disminución en las tonalidades rojas. La tonalidad es un parámetro que tiende a ir aumentando en los vinos conforme transcurre el envejecimiento y evoluciona el vino. Esto es debido a la disminución de compuestos que absorben luz a 520 nm, ya que se generan combinaciones entre antocianos y taninos que, aunque estabilizan el color, poseen un color rojo-anaranjado que hacen que tienda a aumentar la tonalidad. El mayor incremento de la tonalidad en los vinos tratados podría indicar que la adición de manoproteínas y chips puede generar vinos más evolucionados con menos matices púrpura, característicos de vinos jóvenes. Con respecto al contenido en polifenoles totales, se observó un descenso significativo en los vinos tratados con manoproteínas (MP1) y con manoproteínas y chips (CMP1), no observándose ningún efecto en este parámetro en el vino testigo (T1) ni en el vino tratado exclusivamente con chips (C1). Así, los tratamientos MP1 y CMP1 mostraron una caída de polifenoles totales de hasta un 10% con respecto al T0. Sin embargo, el tratamiento C1, a pesar de tener una caída significativa de la intensidad de color mantuvo el contenido de polifenoles totales, debido probablemente al aporte de taninos por parte de la madera.

La disminución en el contenido de polifenoles totales en los vinos tratados con manoproteínas (MP1 y CMP1) puede ser atribuible a la adsorción de los compuestos fenólicos sobre las manoproteínas adicionadas. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por otros autores, que ponen de manifiesto la capacidad de las levaduras para retener o absorber diferentes compuestos fenólicos del vino (Guadalupe, 2008; Lizama et al., 2006; Mazauric & Salmon, 2006). Aunque diversos estudios han puesto de manifiesto que las manoproteínas pueden interactuar con los antocianos y taninos, evitando su precipitación y mejorando la estabilidad del color (Escot et al, 2001; Feuillat et al, 2001; Francois et al, 2007; Saucier et al, 2000); otros autores indican que las manoproteínas pueden aumentar la precipitación de los polímeros fenólicos causando una pérdida de color y del contenido de polifenoles totales (Del Barrio-Galán et al., 2011).

Del mismo modo, el color total del vino (CT) mostró descensos significativos en todos los tratamientos, siendo la caída más acusada en los vinos tratados con manoproteínas. Con respecto al color debido a antocianos resistentes por el sulfuroso (CAR), no se observaron diferencias significativas en los vinos analizados, lo que podría indicar una ausencia en la polimerización de los polifenoles durante el mes de tratamiento.

En la **Tabla 5** se muestran los parámetros CIELAB de las muestras analizadas. La luminosidad de todos los vinos se acercó más hacia los tonos blancos ( $L^* = 100$ ) que hacia los tonos negros ( $L^* = 0$ ). Para la coordenada  $a^*$  (rojo/verde) el valor fue positivo, indicando que en todos los vinos predominaron más los tonos rojos que verdes. La coordenada  $b^*$  (amarillo/azul) también fue positiva en todos los vinos analizados, indicando que predominaron las tonalidades amarillas sobre las azules. Los parámetros de CIELAB mostrados estuvieron en el rango obtenidos por otros autores en vinos tintos (García-Marino et al., 2013).

Los parámetros  $a^*$  y  $b^*$  disminuyeron en todos los vinos analizados a lo largo del tratamiento. Esto significa un desplazamiento del color desde el rojo hacia la zona de los verdes y desde el amarillo hacia la zona de los azules. El desplazamiento de la tonalidad hacia la componente azul observado en los vinos durante el mes de tratamiento cumple con las demandas de los consumidores actuales, que solicitan vinos con tonalidades violetas. Cabe destacar que al mes de tratamiento, la saturación o croma ( $C^*$ ) fue significativamente inferior en los vinos tratados con manoproteínas (MP1). Estos datos están de acuerdo con la menor intensidad de color mostrada en los vinos MP1 (**Tabla 4**). Con respecto al tono angular ( $H^*$ ), excepto en el vino tratado con manoproteínas (MP1), se produjo una disminución, por lo que los tonos se desplazaron de la zona de los rojos a la de los púrpuras y violetas. Aunque el vino T0 presentó valores más altos de luminosidad ( $L^*$ ), es decir, tonos más intensos, no se observaron diferencias significativas con respecto a este parámetro en las muestras analizadas, indicando que la luminosidad de los vinos se mantuvo durante todo el periodo estudiado.

**Tabla 4.** Parámetros de color e índice de polifenoles totales (unidades de absorbancia) en las muestras analizadas

Muestra	A420 <sup>1</sup>	A520 <sup>1</sup>	A620 <sup>1</sup>	IC <sup>1</sup>	T <sup>1</sup>	IPT <sup>1</sup>	CT <sup>1</sup>	CAR <sup>1</sup>
T0 <sup>2</sup>	0,323 ± 0,01ab	0,499 ± 0,02b	0,182 ± 0,01c	10,04 ± 0,03b	0,65 ± 0,03a	63,58 ± 0,90c	5,95 ± 0,01e	1,32 ± 0,00a
T1 <sup>2</sup>	0,343 ± 0,01b	0,487 ± 0,02b	0,142 ± 0,01b	9,72 ± 0,02b	0,70 ± 0,03ab	62,57±0,51bc	5,81 ± 0,07d	1,38 ± 0,05a
MP1 <sup>2</sup>	0,308 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,405 ± 0,02a	0,125 ± 0,01a	8,38 ± 0,02a	0,76 ± 0,03b	57,52 ± 1,29a	4,94 ± 0,05a	1,31 ± 0,01a
CMP1 <sup>2</sup>	0,315 ± 0,00a	0,422 ± 0,01a	0,129 ± 0,00a	8,66 ± 0,01a	0,75 ± 0,01b	61,17 ± 0,40b	5,14 ± 0,03b	1,31 ± 0,01a
C1 <sup>2</sup>	0,321 ± 0,00ab	0,430 ± 0,01a	0,130 ± 0,00b	8,81 ± 0,01a	0,75 ± 0,01b	63,65±0,11c	5,28±0,06c	1,37±0,03a

<sup>1</sup>A420: absorbancia medida a 420 nm; A520: absorbancia medida a 520 nm; A620: absorbancia medida a 620 nm IC: Intensidad de color; T: tonalidad; IPT: Índice de Polifenoles Totales; CT: color total del vino  
CAR: color debido a antocianos resistentes al sulfuroso.

<sup>2</sup>T0: vino testigo al inicio de tratamiento; T1: vino testigo tras 1 mes de tratamiento; MP1: tratamiento de 1 mes con manoproteínas comerciales; CMP1: tratamiento de 1 mes con chips y manoproteínas comerciales; C1: tratamiento de 1 mes con chips.

Los valores son medias ± S.D. (n = 3). Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 5.** Parámetros CIELAB en las muestras analizadas

Muestra	L* <sup>1</sup>	a* <sup>1</sup>	b* <sup>1</sup>	C* <sup>1</sup>	H* <sup>1</sup>
T0 <sup>2</sup>	78,9879 ± 3,30a	26,6127 ± 1,81b	1,8196 ± 0,09d	26,7120 ± 1,81b	3,9114 ± 0,74d
T1 <sup>2</sup>	72,4311 ± 2,06a	26,1246 ± 0,20b	0,1730 ± 0,01a	26,1552 ± 0,20b	0,3794 ± 0,02a
MP1 <sup>2</sup>	76,1230 ± 3,56a	21,4567 ± 2,32a	1,1324 ± 0,04c	21,4866 ± 2,32a	3,0210 ± 0,34d
CMP1 <sup>2</sup>	75,1187 ± 0,19a	22,8449 ± 1,79ab	0,7519 ± 0,05b	22,8472 ± 1,79ab	1,8851 ± 0,19b
C1 <sup>2</sup>	74,7272 ± 1,88a	23,2744 ± 1,43ab	0,7117 ± 0,07b	23,2852 ± 1,43ab	1,7514 ± 0,20b

<sup>1</sup>L\*: luminosidad; a\*: rojo/verde; b\*: amarillo/azul; C\*: saturación; H\*: tono.

<sup>2</sup>T0: vino testigo al inicio de tratamiento; T1: vino testigo tras 1 mes de tratamiento; MP1: tratamiento de 1 mes con manoproteínas comerciales; CMP1: tratamiento de 1 mes con chips y manoproteínas comerciales; C1: tratamiento de 1 mes con chips.

Los valores son medias ± S.D. (n = 3). Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

## 4.2. Compuestos fenólicos monoméricos

En la **Tabla 6** se muestran los antocianos monómeros en las muestras analizadas.

Los antocianos totales están divididos en tres grupos, los antocianos no acetilados, que representaron aproximadamente un 83% del contenido total en todas las muestras analizadas, los antocianos acetilados que representaron aproximadamente un 6% del contenido total, y los antocianos cumarilados que supusieron aproximadamente un 11% del contenido total. Como era de esperar, la malvidina-3-glucósido fue el antociano mayoritario en todas las muestras analizadas y supuso más del 50% de los antocianos totales. Estas concentraciones son propias de las bayas de la variedad Tempranillo según indica el estudio realizado por Valls et al. (2000).

Los antocianos totales disminuyeron significativamente al mes de tratamiento en el vino testigo (T1) y en los tratamientos en los que se aplicaron manoproteínas (MP1 y CMP1). Esta disminución puede ser debida, por un lado, a la disminución de antocianos libres que se produce de forma natural con el transcurso del tiempo, en la cual, los antocianos libres prácticamente llegan a desaparecer en el vino, aunque se mantienen sus formas combinadas; y por otro, a los fenómenos de adsorción de los antocianos monómeros por parte de las manoproteínas adicionadas. Cabe destacar que el mayor descenso de antocianos se produjo en la familia de los antocianos cumarilados y antocianos no acetilados en el vino tratado con manoproteínas (MP1). Los resultados obtenidos muestran que esta adsorción depende del tipo de antociano estudiado. Por otro lado, estos resultados cuestionan el efecto protector sobre la pérdida de color que tiene la adición de manoproteínas al vino.

Es importante señalar que el tratamiento con chips (C1) fue el que menor pérdida de antocianos libres mostró durante el mes de tratamiento, no observándose diferencias significativas con respecto al vino testigo al inicio del ensayo (T0) en el contenido de antocianos no acetilados ni antocianos acetilados.

En la **Tabla 7** se muestran los ácidos hidroxicinámicos y el *trans* resveratrol en las muestras analizadas. En todos los vinos analizados la forma *trans* de los ácidos hidroxicinámicos presentó mayores concentraciones que su isómero *cis*, siendo el ácido *trans* caftárico el ácido principal (más de la mitad de la concentración de los ácidos totales), seguido del *trans* cutárico. No existieron diferencias significativas en el contenido total de ácidos hidroxicinámicos esterificados en los tratamientos llevados a cabo en el estudio. Sin embargo, excepto en los vinos tratados exclusivamente con manoproteínas (MP1), se produjo un incremento significativo del contenido total de los ácidos hidroxicinámicos libres, probablemente debido a

una hidrólisis de los ácidos esterificados. Al igual que lo observado en los antocianos monómeros, los vinos tratados exclusivamente con manoproteínas mostraron una mayor pérdida de *trans* resveratrol y *trans* resveratrol glucósido.

En la **Tabla 8** se muestra el contenido de flavonoles en las muestras analizadas. Los flavonoles mayoritarios en todos los vinos fueron las distintas formas de miricetina y quercetina, las cuales constituyeron aproximadamente el 90% de los flavonoles totales. A diferencia de lo observado con los antocianos monómeros, no se encontraron diferencias significativas en cuanto al contenido de flavonoles en ninguno de los tratamientos realizados con respecto al vino testigo al inicio del tratamiento (T0). Este hecho podría indicar que los fenómenos de adsorción de los compuestos fenólicos por parte de las manoproteínas adicionadas dependen del tipo de compuesto fenólico.

En la **Tabla 9** se muestra el contenido de ácido gálico, catequina y ácido sirínico en las muestras analizadas. Los vinos tratados con chips (CMP1 y C1) mostraron la mayor concentración de ácido gálico, mientras que el vino tratado exclusivamente con manoproteínas (MP1) mostró un contenido inferior y similar al T0 y T1. El mayor contenido de ácido gálico en los vinos tratados con chips puede explicarse por el hecho de que estos compuestos pueden transferirse al vino por la hidroalcoholisis de la madera de roble (Del Barrio-Galán et al., 2012).

Respecto a la catequina, los vinos tratados exclusivamente con chips (C1) mostraron un aumento significativo con respecto al vino testigo al inicio de tratamiento, debido probablemente a la liberación de este compuesto por parte de la madera. Por el contrario, el contenido de ácido sirínico disminuyó significativamente en todos los tratamientos debido probablemente a su hidrólisis. Sin embargo, cabe destacar la menor disminución de este compuesto observada en los vinos tratados exclusivamente con chips. Este hecho podría deberse al aporte del ácido sirínico por parte de la madera al degradarse la lignina.

**Tabla 6.** Antocianos monómeros (mg/L) en las muestras analizadas.

	T0 <sup>1</sup>	T1 <sup>1</sup>	MP1 <sup>1</sup>	CMP1 <sup>1</sup>	C1 <sup>1</sup>
Delfinidina-3-glucósido	17,33 ± 0,83a	16,25 ± 0,59a	16,03 ± 0,94a	15,72 ± 0,62a	16,17 ± 0,25a
Cianidina-3-glucósido	0,72 ± 0,03b	0,39 ± 0,01a	0,35 ± 0,02a	0,38 ± 0,01a	0,77 ± 0,01c
Petunidina-3-glucósido	23,59 ± 0,82b	21,75 ± 0,19ab	21,21 ± 0,62a	21,24 ± 0,42a	22,79 ± 1,26ab
Peonidina-3-glucósido	4,48 ± 0,12c	4,21 ± 0,10bc	3,66 ± 0,12a	3,91 ± 0,19ab	4,16 ± 0,06bc
Malvidina-3-glucósido	112,45 ± 1,62b	107,58 ± 4,95ab	100,10 ± 1,30a	104,70 ± 5,57ab	107,75 ± 6,15ab
Delfinidina-3-glucósido acetato	1,56 ± 0,02c	1,44 ± 0,01b	1,52 ± 0,02c	1,28 ± 0,03a	1,53 ± 0,03c
Cianidina-3-glucósido acetato	1,42 ± 0,02c	1,02 ± 0,05ab	1,08 ± 0,05b	0,95 ± 0,03a	1,44 ± 0,07c
Petunidina-3-glucósido acetato	1,69 ± 0,02d	1,14 ± 0,04a	1,45 ± 0,03c	1,32 ± 0,02b	1,64 ± 0,06d
Peonidina-3-glucósido acetato	0,61 ± 0,01b	0,63 ± 0,01b	0,51 ± 0,02a	0,46 ± 0,03a	0,73 ± 0,03c
Malvidina-3-glucósido acetato	6,12 ± 0,28b	5,98 ± 0,40b	5,27 ± 0,09a	5,42 ± 0,24ab	5,76 ± 0,20ab
Delfinidina-3-glucósido cumarato	3,49 ± 0,19c	2,47 ± 0,13ab	2,36 ± 0,11ab	2,29 ± 0,15a	2,72 ± 0,08b
Cianidina-3-glucósido cumarato	0,68 ± 0,01c	0,50 ± 0,02a	0,48 ± 0,01a	0,60 ± 0,03b	0,67 ± 0,03c
Petunidina-3-glucósido cumarato	3,22 ± 0,17b	2,59 ± 0,02a	2,62 ± 0,17a	2,49 ± 0,05a	2,73 ± 0,09a
Peonidina-3-glucósido cumarato	1,99 ± 0,07c	1,71 ± 0,07b	1,70 ± 0,08b	1,34 ± 0,02a	1,33 ± 0,04a
Malvidina-3-glucósido cumarato	11,5 ± 0,61c	9,11 ± 0,21ab	8,36 ± 0,15a	8,52 ± 0,15ab	9,40 ± 0,39b
Antocianos no acilados	158,57 ± 2,00b	150,18 ± 4,99ab	141,35 ± 1,72a	145,95 ± 5,62a	151,64 ± 6,28ab
Antocianos acetilados	11,40 ± 0,28c	10,21 ± 0,41b	9,83 ± 0,11ab	9,43 ± 0,25a	11,10 ± 0,22c
Antocianos cumarilados	20,89 ± 0,66d	16,38 ± 0,26bc	15,52 ± 0,26ab	15,24 ± 0,22a	16,85 ± 0,41c
Antocianos totales	190,86 ± 2,13c	176,79 ± 5,07ab	166,69 ± 1,79a	170,61 ± 5,67ab	179,59 ± 6,33bc

<sup>1</sup>T0: vino testigo al inicio de tratamiento; T1: vino testigo tras 1 mes de tratamiento; MP1: tratamiento de 1 mes con manoproteínas comerciales; CMP1: tratamiento de 1 mes con chips y manoproteínas comerciales; C1: tratamiento de 1 mes con chips.

Los valores son medias ± S.D. (n = 3). Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )



**Tabla 7.** Ácidos hidroxicinámicos y *trans* resveratrol (mg/L) en las muestras analizadas.

	T0 <sup>1</sup>	T1 <sup>1</sup>	MP1 <sup>1</sup>	CMP1 <sup>1</sup>	C1 <sup>1</sup>
<i>Cis</i> caftárico	3,61 ± 0,07ab	3,72 ± 0,22ab	3,59 ± 0,17a	3,63 ± 0,16ab	4,00 ± 0,08b
<i>Trans</i> caftárico	25,10 ± 0,65a	24,57 ± 0,68a	24,92 ± 1,04a	23,93 ± 0,82a	23,95 ± 0,72a
<i>Cis</i> cutárico	1,61 ± 0,10a	1,53 ± 0,18a	1,62 ± 0,06a	1,56 ± 0,09a	1,54 ± 0,08a
<i>Trans</i> cutárico	7,92 ± 0,22a	7,10 ± 0,45a	7,28 ± 0,43a	7,05 ± 0,44a	7,20 ± 0,14a
<i>Trans</i> fertárico	0,56 ± 0,07a	0,80 ± 0,08a	0,76 ± 0,12a	0,73 ± 0,14a	0,78 ± 0,07a
Ácido cafeico	1,21 ± 0,06a	1,86 ± 0,04c	1,15 ± 0,08a	1,88 ± 0,09c	1,66 ± 0,01b
Ácido cumárico	0,30 ± 0,01a	0,51 ± 0,01c	0,49 ± 0,01bc	0,32 ± 0,01a	0,38 ± 0,02ab
Ácidos hidroxicinámicos libres	1,51 ± 0,06a	2,37 ± 0,04c	1,64 ± 0,08a	2,20 ± 0,13bc	2,04 ± 0,02b
Ácidos hidroxicinámicos esterificados	38,80 ± 0,70a	37,72 ± 0,87a	38,17 ± 1,15a	36,90 ± 0,96a	37,47 ± 0,75a
Ácidos hidroxicinámicos totales	40,31 ± 0,70a	40,09 ± 0,87a	39,81 ± 1,15a	39,10 ± 0,97a	39,51 ± 0,75a
<i>Trans</i> resveratrol glucósido	1,84 ± 0,07c	1,69 ± 0,07bc	0,97 ± 0,04a	1,55 ± 0,06b	1,75 ± 0,07c
<i>Trans</i> resveratrol	1,51 ± 0,06c	1,45 ± 0,06bc	1,03 ± 0,04a	1,31 ± 0,05b	1,33 ± 0,05b

<sup>1</sup>T0: vino testigo al inicio de tratamiento; T1: vino testigo tras 1 mes de tratamiento; MP1: tratamiento de 1 mes con manoproteínas comerciales; CMP1: tratamiento de 1 mes con chips y manoproteínas comerciales; C1: tratamiento de 1 mes con chips.

Los valores son medias ± S.D. (n = 3). Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 8.** Flavonoles (mg/L) en las muestras analizadas.

	T0 <sup>1</sup>	T1 <sup>1</sup>	MP1 <sup>1</sup>	CMP1 <sup>1</sup>	C1 <sup>1</sup>
Miricetina-3-glucósido+miricetina-3-glucurónido	20,37 ± 0,65a	20,62 ± 0,39a	20,21 ± 1,08a	19,69 ± 1,12a	20,42 ± 0,39a
Hiperósido	3,71 ± 0,18b	2,45 ± 0,17a	2,32 ± 0,07a	2,47 ± 0,12a	2,21 ± 0,06a
Quercetina-3-glucósido+quercetina-3-glucurónido	17,49 ± 0,35a	18,02 ± 0,63a	17,42 ± 0,17a	16,94 ± 1,09a	17,60 ± 0,90a
Miricetina	3,25 ± 0,11a	4,95 ± 0,16d	4,18 ± 0,16bc	3,92 ± 0,17b	4,49 ± 0,29cd
Quercetina	3,24 ± 0,23d	2,76 ± 0,12bc	2,46 ± 0,03ab	2,31 ± 0,12a	2,89 ± 0,09cd
Kaempferol	0,79 ± 0,01b	0,94 ± 0,06c	0,68 ± 0,02a	0,62 ± 0,01a	0,77 ± 0,03b
Isoramnetina	0,21 ± 0,01ab	0,31 ± 0,01c	0,23 ± 0,01b	0,18 ± 0,00a	0,22 ± 0,01b
Flavonoles totales	49,06 ± 0,80ab	50,04 ± 0,96b	47,50 ± 1,23ab	46,13 ± 1,67a	48,59 ± 1,25ab

<sup>1</sup>T0: vino testigo al inicio de tratamiento; T1: vino testigo tras 1 mes de tratamiento; MP1: tratamiento de 1 mes con manoproteínas comerciales; CMP1: tratamiento de 1 mes con chips y manoproteínas comerciales; C1: tratamiento de 1 mes con chips.

Los valores son medias ± S.D. (n = 3). Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 9.** Gálico, catequina y ácido sirínico (mg/L) en las muestras analizadas.

	T0 <sup>1</sup>	T1 <sup>1</sup>	MP1 <sup>1</sup>	CMP1 <sup>1</sup>	C1 <sup>1</sup>
Gálico	60,21 ± 2,41a	61,09 ± 2,68ab	58,32 ± 2,64a	66,17 ± 2,65b	66,75 ± 2,67b
Catequina	28,28 ± 1,53a	29,04 ± 3,60ab	30,07 ± 3,72ab	35,47 ± 3,42 ab	37,27 ± 3,49b
Ácido sirínico	14,89 ± 0,60c	2,49 ± 0,09a	2,35 ± 0,09a	2,36 ± 0,09a	3,50 ± 0,14b

<sup>1</sup>T0: vino testigo al inicio de tratamiento; T1: vino testigo tras 1 mes de tratamiento; MP1: tratamiento de 1 mes con manoproteínas comerciales; CMP1: tratamiento de 1 mes con chips y manoproteínas comerciales; C1: tratamiento de 1 mes con chips.

Los valores son medias ± S.D. (n = 3). Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

### 4.3. Proantocianidinas y grado medio de polimerización

Por último, el contenido de taninos totales y el grado medio de polimerización de los taninos en los vinos analizados se observa en la **Tabla 10**.

Durante el mes de tratamiento se produjo una disminución significativa del contenido de proantocianidinas en los vinos testigo (T1) y tratados exclusivamente con manoproteínas (MP1). Sin embargo, se observó un incremento significativo en los vinos tratados exclusivamente con chips (C1) debido a la cesión de taninos por parte de la madera. Cabe destacar, que la adición conjunta de manoproteínas y chips (CMP1) no produjo un aumento significativo de taninos con respecto al vino testigo (T0). Estos resultados indican que la adición de manoproteínas al vino, bien de forma exclusiva, o junto con chips, no actuaron como coloide protector ni mantuvieron en dispersión coloidal a los polifenoles. Al igual que lo observado por Guadalupe (2008), los resultados obtenidos en este estudio muestran que la presencia de manoproteínas en el vino pueden desestabilizar las partículas de tanino, provocando su precipitación y dando lugar a una reducción de su contenido.

Con respecto al grado medio de polimerización de los taninos, durante el mes de tratamiento se observó una significativa disminución en todos los tratamientos, siendo los vinos tratados exclusivamente con manoproteínas (MP1) los que mostraron los valores más bajos. Se debe tener en cuenta que el nivel de astringencia y amargor que aporta un tanino condensado en el vino está determinado fundamentalmente por su tamaño o grado de polimerización. De hecho, la astringencia de los taninos aumenta con el grado de polimerización de estos (hasta diez unidades) y disminuye a continuación como consecuencia de la formación de complejos de taninos muy voluminosos, incapaces de permanecer en suspensión y por lo tanto precipitar. Por otro lado, se ha podido establecer que el amargor de los taninos aumenta hasta tamaños de polimerización cercanos a cuatro unidades, a partir de los cuales disminuyen las sensaciones amargas (Peña Neira, 2006). Por ello, y teniendo en cuenta los grados medios de polimerización obtenidos, los vinos tratados con manoproteínas fueron menos astringentes y menos amargos que el resto de vinos analizados.

**Tabla 10.** Taninos totales (mg/L) y grado medio de polimerización (mDP) en las muestras analizadas.

	T0 <sup>1</sup>	T1 <sup>1</sup>	MP1 <sup>1</sup>	CMP1 <sup>1</sup>	C1 <sup>1</sup>
Taninos totales	1069,18 ± 15,47b	992,57 ± 3,23a	954,38 ± 12,82a	1005,36 ± 44,57ab	1207,24 ± 22,11c
mDP	8,33 ± 0,13d	7,80 ± 0,08c	6,56 ± 0,07a	7,85 ± 0,27c	7,13 ± 0,01b

<sup>1</sup>T0: vino testigo al inicio de tratamiento; T1: vino testigo tras 1 mes de tratamiento; MP1: tratamiento de 1 mes con manoproteínas comerciales; CMP1: tratamiento de 1 mes con chips y manoproteínas comerciales; C1: tratamiento de 1 mes con chips.

Los valores son medias ± S.D. (n = 3). Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

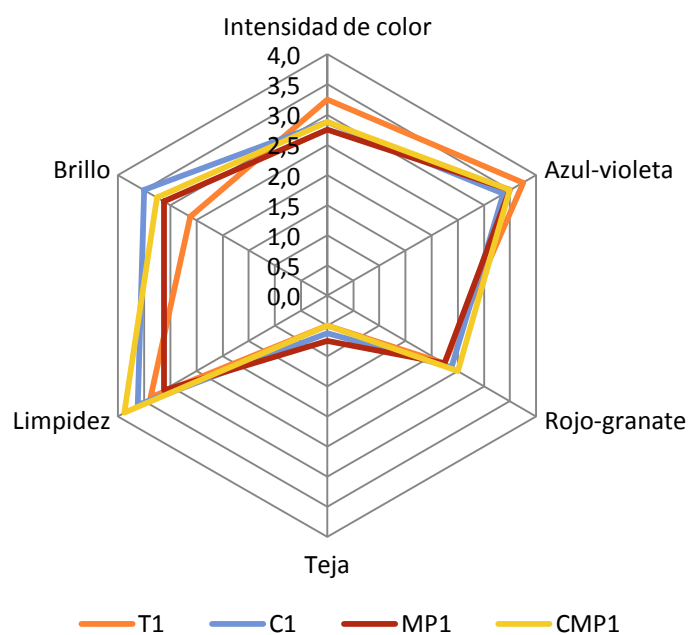
#### 4.4. Análisis sensorial

Por último, se llevó a cabo un análisis sensorial de los vinos al mes de tratamiento. En las **Figuras 6, 7 y 8** se muestran la fase visual, olfativa y gustativa, respectivamente. Se puede observar cómo los tratamientos modificaron las características organolépticas evaluadas en las distintas fases sensoriales.

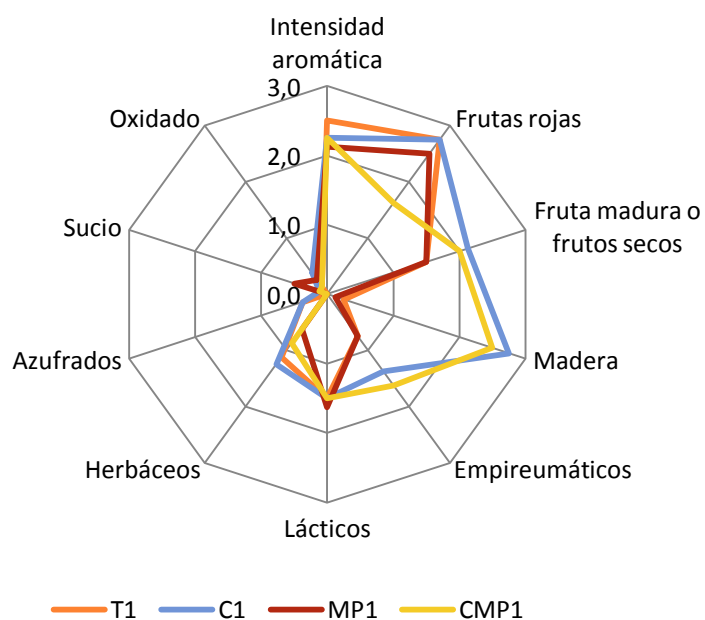
El vino testigo al mes de tratamiento (T1) fue el que menor brillo y mayor intensidad de color mostró con notas azul-violetas (**Figura 6**). Estos resultados están de acuerdo con los datos de parámetros de color presentados en las **Tablas 4 y 5**. Además, con respecto a la fase aromática, el vino T1 destacó por la mayor intensidad aromática dominada por notas a frutos rojos (**Figura 7**). A nivel gustativo, fue el vino que mayor tanicidad y acidez mostró (**Figura 8**).

Los tratamientos C1 y CMP1 mejoraron la fase visual aportando más brillo, más tonalidades rojas y limpidez (**Figura 6**). En la fase aromática destacaron por notas a madera, empireumáticas y a fruta madura o frutos secos (**Figura 7**). En la fase gustativa obtuvieron los valores más altos en astringencia, amargor y volumen en boca. C1 mostró valores de tanicidad similares al vino testigo (T1) y más altos que los vinos CMP1 (**Figura 8**).

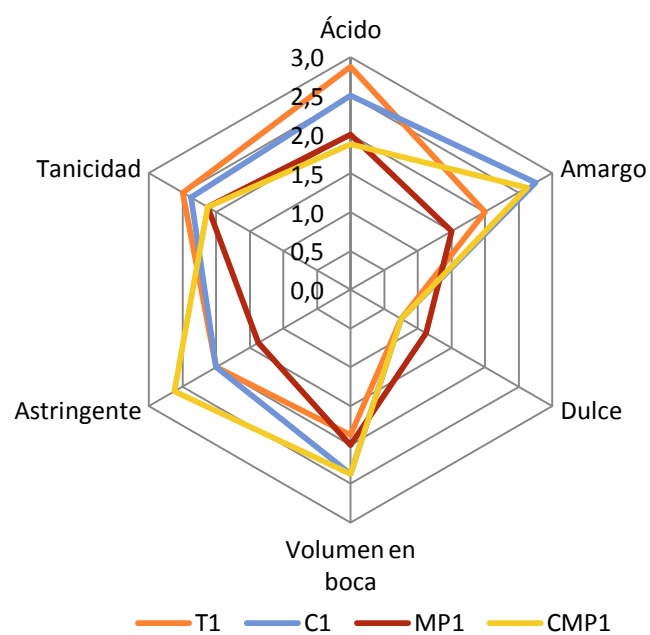
Por último, el vino tratado con manoproteínas (MP1) fue el que menos tonos rojos mostró (**Figura 6**), en concordancia con los datos obtenidos instrumentalmente (**Tablas 4 y 5**). A nivel aromático destacó por notas lácticas y valores elevados de aromas a frutos rojos (**Figura 7**). En la fase gustativa fue el vino que más notas dulces mostró y de menores sensaciones astringentes, amargas y tánicas (**Figura 8**). Estas sensaciones en boca coinciden con los datos obtenidos en el análisis químico, en el cual se mostró que los vinos tratados exclusivamente con manoproteínas mostraron el menor contenido en taninos y los grados medios de polimerización más bajos (**Tabla 10**).



**Figura 6:** Fase visual de los vinos evaluados sensorialmente. T1: vino testigo tras 1 mes de tratamiento; MP1: tratamiento de 1 mes con manoproteínas comerciales; CMP1: tratamiento de 1 mes con chips y manoproteínas comerciales; C1: tratamiento de 1 mes con chips.



**Figura 7:** Fase olfativa de los vinos evaluados sensorialmente. T1: vino testigo tras 1 mes de tratamiento; MP1: tratamiento de 1 mes con manoproteínas comerciales; CMP1: tratamiento de 1 mes con chips y manoproteínas comerciales; C1: tratamiento de 1 mes con chips.



**Figura 8:** Fase gustativa de los vinos evaluados sensorialmente. T1: vino testigo tras 1 mes de tratamiento; MP1: tratamiento de 1 mes con manoproteínas comerciales; CMP1: tratamiento de 1 mes con chips y manoproteínas comerciales; C1: tratamiento de 1 mes con chips.

## 5. CONCLUSIONES

Las conclusiones más destacadas de este trabajo son las siguientes:

1. La adición exclusiva de preparados comerciales ricos en manoproteínas fue el tratamiento que más redujo la intensidad colorante, el color total, el contenido de polifenoles totales, los antocianos monómeros, *trans* resveratrol, *trans* resveratrol glucósido, taninos totales y grado medio de polimerización de los vinos tintos.
2. El aporte exclusivo de chips consiguió mantener el contenido de polifenoles totales y de antocianos monómeros, así como aumentar el contenido de taninos totales, ácido gálico y catequina de los vinos.
3. La adición conjunta de manoproteínas y chips produjo una disminución en la intensidad de color, índice de polifenoles totales, color total, antocianos monómeros, *trans* resveratrol y *trans* resveratrol glucósido y un incremento en el contenido en ácido gálico respecto al vino testigo T0.
4. No se encontraron diferencias significativas en los tratamientos realizados en cuanto a la evolución de ácidos hidroxicinámicos totales, ácidos hidroxicinámicos esterificados y flavonoles totales respecto al vino testigo T0.
5. A nivel sensorial, el vino tratado exclusivamente con manoproteínas mostró los menores tonos rojos, las menores sensaciones de astringencia y amargor y las mayores notas dulces. Los vinos tratados con chips mejoraron la fase visual respecto al testigo, en la fase aromática se caracterizaron por notas propias del aporte de madera y obtuvieron los valores más altos de astringencia, amargor y volumen en boca.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Ayala, F.; Echávarri, J. F. & Negueruela, A. I. (1997). A new simplified method for measuring the colour of wines. I. Red and rosé wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 48, 357-363.
- Béteau. J. & Roig Josa, G. (2006). Los chips de roble como herramienta de elaboración y crianza. *Acenología*, 74.
- Cheynier, V.; Dueñas, M.; Salas, E.; Maury, C.; Souquet, J. M.; Sarni-Manchado, P. & Fulcrand, H. (2006). Structure and properties of wine pigments and tannins. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57, 298-305.
- Del Barrio Galán, R. (2011). *Crianza sobre lías y uso de preparados comerciales derivados de levadura en la calidad de vinos blancos y tintos*. Tesis doctoral. Universidad de Salamanca, Salamanca, Castilla León, España.
- Del Barrio-Galán, R.; Ortega-Heras, M.; Sánchez-Iglesias, M. & Pérez-Magariño, S. (2012). Interactions of phenolic and volatile compounds with yeast lees, commercial yeast derivatives and non toasted chips in model solutions and young red wines. *European Food Research & Technology*, 234, 231-244.
- Escot, S.; Feuillat, M.; Dulau, L. & Charpentier, C. (2001). Release of polysaccharides by yeast and the influence of released polysaccharides on color stability and wine astringency. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 7, 153-159.
- Feuillat, M.; Escot, S.; Charpentier, C. & Dulau, L. (2001). Élevage des vins rouges sur lies fines. Interêt des interactions entre polysaccharides de levure et polyphénols du vin. *La Revue des Oenologues*, 98, 17–18.
- Francois, J. M.; Alexandre, H.; Granes, D. & Feuillat, M. (2007). Vers une meilleure connaissance des produits dérivés de levures. *La Revue des Oenologues*, 122, 9–12.
- García-Marino, M.; Escudero-Gilete, M.L.; Heredia, F.J.; Escribano-Bailón, M.T. & Rivas-Gonzalo, J.C. (2013). Color-copigmentation study by tristimulus colorimetry (CIELAB) in red wines obtained from Tempranillo and Graciano varieties. *Food Research International*, 51, 123–131.
- Gómez-Alonso, S.; García-Romero, E. & Hermosín-Gutiérrez, I. (2007). HPLC analysis of diverse grape and wine phenolics using direct injection and multidetection by DAD and fluorescence. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 618-626.
- Guadalupe, Z. (2008). *Manoproteínas y enzimas en la extracción y estabilidad del color de vinos tintos de Tempranillo*. Tesis doctoral. Universidad de La Rioja, La Rioja, España.



- Guadalupe, Z.; Soldevilla, A.; Sáenz-Navajas, M. P. & Ayestarán, B. (2006). Analysis of polymeric phenolics in red wines using different techniques combined with gel permeation chromatography fractionation. *Journal of Chromatography A*, 1112, 112-120
- Hidalgo Togores, J. (2011). *Tratado de Enología*. Volumen I y II. (2ª ed.). Madrid: Mundi-Prensa.
- Kennedy, J. A. & Jones, G. P. (2001). Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of phloroglucinol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 1740-1746.
- Levengood, J. & Boulton, R. (2004). The variation in the colour due to copigmentation in young Cabernet Sauvignon wines. In: Red wine color: revealing the mysteries. Ed. A. L. Waterhouse; J. A. Kennedy, Washington DC: *American Chemical Society*, 35-52.
- Lizama, V.; Rodríguez, M.L.; Alvarez, I.; García, M.J. & Aleixandre, J.L. (2006). Influencia de la adición de manoproteínas sobre la estabilidad de vinos tintos de variedades Monastrell y Tempranillo. *XXIV Congreso mundial de la viña y el vino*. Logroño. España.
- Martínez-Pinilla, O. (2013). *Caracterización enológica de vinos elaborados con variedades minoritarias de La Rioja con diferentes vinificaciones y añadas*. Tesis Doctoral. Universidad de La Rioja, La Rioja, España.
- Masson, G.J. (1996). Composition chimique du bois de chêne de tonnellerie. The chemical composition of barrel oak wood. *Bulletin de l' OIV*, 69, 785-786.
- Mazauric, J.P. & Salmon, J.M. (2006). Interactions between yeast lees and wine polyphenols during simulation of wine aging: II Analysis of desorbed polyphenol compounds from yeast lees. *Journal of Agricultural Chemistry*, 54, 3876-3981.
- Office International de la Vigne et du Vin. (1990). *International Analysis Methods of Wines and Musts*; OIV: París, Francia.
- Palacios, A.; Suárez, C.; & Heras, J.M. (2006). Manejo de la acidez del vino base cava desde el punto de vista organoléptico. *Acenología*, 66.
- Peña Neira, A. (2006). Los taninos y su importancia en la calidad de uvas y vinos. *Vendimia*, 18-20.
- Pozo-Bayón, M.A.; Andújar-Ortiz, I. & Moreno-Arribas, M.V. (2009). Scientific evidences beyond the application of inactive dry yeast preparations in winemaking. *Food Research International*, 42, 754-761.
- Santos-Buelga, C. & de Freitas, V. (2009). Influence of phenolics on wines organoleptic properties. In: *Wine Chemistry and Biochemistry*. Ed. Moreno-Arribas, M. V., Polo, M. C., Springer, New York, USA, pp 529-560.

- Saucier, C.; Glories, Y. & Roux, D. (2000). Interactions tanins-colloides: Nouvelles avancées concernant la notion de “bons” et de “mauvais” tanins. *La Revue des Oenologues*, 94, 7–8.
- Sella, J.; Espinas, E; Villaroya, A. & Mínguez, S. (1998). Factores agronómicos que inciden sobre la composición fenólica de la uva. *Las materias fenólicas del vino*. Villafranca del Penedés.
- Suárez-Lepe, J.A.; Ferreira, V; Torrens, J.; Polo, M.C. & González, M.L. (2002). *Análisis sensorial [vino]*. Universitat Rovira i Virgili. Tarragona, Cataluña, España.
- Valls, J.; Lampreave, M.; Nadal, M. & Arola, L. (2000). Importancia de los compuestos fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza. *Alimentación, equipos y tecnología*. 119.
- Vidal, S.; Francis, L.; Williams, P.; Kwiatkowski, M.; Gawel, R.; Cheynier, W. & Waters, E. (2004). The mouth-feel properties of polysaccharides and anthocyanins in a wine like medium. *Food Chemistry*, 85, 519-525.
- Vivas, N.; Nedjma, M. & Álvarez, J.M. (2003). Los fenómenos coloidales y el afinado de los vinos. *Acenología*, 31.
- Zamora, F. (2003). *Elaboración y crianza del vino tinto: aspectos científicos y prácticos*. Ed. Madrid: Mundi-Prensa, Madrid. España.
- Zamora, F. (2013). La química del color del vino. *Acenología*, 140.